

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

VIVIANE AGUIAR

**TUBERCULOSE PULMONAR: UMA REVISÃO
SOBRE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

**SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
2013**

VIVIANE AGUIAR

**TUBERCULOSE PULMONAR: UMA REVISÃO
SOBRE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

Monografia apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação como parte dos pré-requisitos para a obtenção do título de especialista em Microbiologia, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Margarete Teresa Gottardo de Almeida.

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
2013

“A verdadeira viagem do descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ver com novos olhos”.

(Marcel Proust)

RESUMO

A tuberculose é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* que constitui um dos mais importantes problemas de saúde pública. O meio de transmissão mais frequente são as vias respiratórias, por inalação de bacilos expelidos pelos doente. Para interromper a cadeia de transmissão da TB é fundamental a descoberta precoce dos casos bacilíferos. O diagnóstico da tuberculose é feito pelo exame clínico, exame radiológico de tórax, prova ou reação tuberculínica, conhecida também como PPD. É através do diagnóstico laboratorial, pela baciloscopia, onde se pesquisa presença de Bacilos Álcool-Ácidos Resistentes – BAAR em esfregaços de amostras preparados e corados com metodologia de ziehl-Neelsen. Outro método usado é a cultura que permite o isolamento e a multiplicação do BAAR, em meios de cultivo especiais para micobactérias. Este trabalho tem como objetivo revisar os aspectos dessa importante doença de interesse médico, assim como os seus principais métodos de diagnóstico.

Palavras-chave: Tuberculose. Bacilo de Kock. Diagnóstico.

ABSTRACT

Tuberculosis is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*, which is one of the most important public health problems. The transmission medium is the most common respiratory tract, inhalation of bacilli expelled by the patient. To break the chain of transmission of TB is critical to early detection of smear positive cases. The diagnosis of tuberculosis is made by clinical examination, chest X-ray, test or tuberculin reaction, also known as PPD. And through laboratory diagnosis by smear, where research presence of bacilli Fatty Alcohol-Resistant - AFB in smear samples prepared and stained with Ziehl-Neelsen method. Another method used is the culture that allows isolation and multiplication of AFB in special culture media for mycobacteria. This paper aims to review the important aspect of this disease medical interest, as well as their main diagnostic methods.

Keywords: Tuberculosis. Koch's bacillus. Diagnosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	06
2 METODOLOGIA	08
2.1 Levantamento bibliografico.....	08
3 DESENVOLVIMENTO	09
3.1 Coleta, armazenamento de material biológico.....	09
3.2 Exame direto microscópico direto – baciloscopia direta.....	10
3.3 Cultura.....	12
3.4 Prova tuberculínica (PPD).....	12
3.5 Biologia Molecular.....	13
3.6 Radiológico.....	13
4 CONCLUSÃO	15
REFERÊNCIAS	16

1 INTRODUÇÃO

A tuberculose constitui-se em uma doença infecciosa milenar que tem como agente causal o *Mycobacterium tuberculosis* (SOUZA, 2010).

Identificado por Robert Koch em 1882, o *Mycobacterium tuberculosis*, é um bacilo não formador de esporos, sem flagelos e que não produz toxinas. É uma espécie aeróbica estrita e tem período de geração longo (de 14 a 20 horas) (BRASIL, 1994).

A Tuberculose (TB) embora seja uma doença antiga, mantém-se atual como um grave problema de saúde pública. Encontra-se distribuída nos cinco continentes e atinge homens e mulheres nas diversas faixas etárias. O Brasil ocupa atualmente o 19º lugar entre os 22 países com a mais alta carga da doença notificada no mundo (SÁ et al, 2012).

A vacina BCG, sigla decorrente da expressão bacilo de Calmette-Guérin, é preparada a partir de uma cepa derivada do *M. bovis*, atenuada por sucessivas passagens através de meio de cultura. A vacina BCG confere poder protetor às formas graves de tuberculose, decorrentes da primo-infecção. No Brasil, é prioritariamente indicada para as crianças de 0 a 4 anos de idade, sendo obrigatória para menores de um ano (BRASIL, 2009).

A intensidade do contato é uma das condições que fazem com que a tuberculose esteja tão associada a população de renda baixa. Quanto mais frequente e prolongado for o contato com doentes bacilíferos, maior será a proporção de pessoas infectadas (BRASIL, 1994)

As dificuldades para o desenvolvimento de ações de saúde em presídios, principalmente no campo preventivo, são de ordens diversas. No que concerne aos obstáculos para o controle da TB nestes locais, nota-se que existem peculiaridades sociais e psicológicas relacionadas à organização e funcionamento da instituição prisional, ressaltando-se a sub valorização dos sintomas da doença, a inadequação de Programas de Controle da TB à população carcerária e as dificuldades de acesso à assistência de saúde, decorrentes da priorização da segurança, pelas autoridades penitenciárias, em detrimento da saúde.(VILLA et al, 2012).

De acordo com a Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, a maior parte dos detentos, em nosso país, ingressa nas prisões já infectada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, e as condições de confinamento favorecem tanto a evolução da infecção para doença como a sua transmissão. Ao dificultar um tratamento adequado aos presos, o sistema prisional não apenas ameaça a vida dos detentos como também facilita a transmissão dessas doenças à população em geral, através dos profissionais que trabalham nas Unidades Prisionais, dos visitantes (familiares e visitas íntimas) e do livramento dos presos. Como os detentos não estão completamente isolados do mundo exterior, uma contaminação não controlada entre eles representa um grave risco à saúde pública. (NOGUEIRA, 2009)

O uso inadequado dessas medicações está relacionado ao aparecimento de cepas multirresistentes do *Mycobacterium tuberculosis*, conforme foi observado nos inquéritos realizados em 1997 e 2007 no Brasil, culminando com a mudança do esquema terapêutico da tuberculose, que passou a contar com o esquema chamado "quatro em um", com dose fixa combinada de rifampicina + isoniazida + pirazinamida + etambutol. Todos esses fármacos em um único comprimido foram estrategicamente pensados com o objetivo de impedir a tomada isolada dos medicamentos e também para proporcionar maior conforto para as pessoas em tratamento com a redução do número de comprimidos (SOUZA, 2010).

Em se tratando do estigma que acompanha os doentes com TB, percebe-se que a pessoa doente pode vivenciar situações traumáticas e constrangedoras, forçando-a muitas vezes a desistir do tratamento por uma questão que está arraigada ao imaginário social. Sendo a TB uma doença que permanece até os dias atuais cercada por preconceitos, é necessário que os profissionais das Equipes de Saúde da Família utilizem estratégias para esclarecer e informar a população sobre a doença. (SÁ et al, 2012).

2 METODOLOGIA

2.1 Levantamento bibliográfico

Foram eleitos como fonte de informações, livros e periódicos relacionados à área da medicina, além de banco especializados de dados. Tal escolha de justifica pelo fato de que esses materiais contem publicações relacionadas aos aspectos gerais da tuberculose.

Considerando esses aspectos, foram escolhidos os seguintes livros e periódicos: Ação antituberculose em nível periférico, Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço, Microbiologia prática: Aplicações de aprendizagem de microbiologia básica, Procedimentos Básicos em microbiologia clínica, Revista Brasileira de Epidemiologia, Revista de Saúde Pública, Texto e Contexto - Enfermagem.

Em relação aos bancos especializados de dados, foram utilizados o medline e o Lilacs.

O levantamento dos índices bibliográficos foi realizado manualmente na Universidade do Sagrado Coração -USC, Campus de Bauru, onde em pesquisa realizada, levou-se em consideração as palavras chaves tuberculose, bacilo de Kock e diagnóstico.

3 DESENVOLVIMENTO

A infecção aguda pode ser diagnosticada por procedimentos laboratoriais convencionais, que incluem exame microscópico direto do material clínico após coloração específica, técnicas de descontaminação/concentração da amostra seguida de exame microscópico e cultura em meios específicos sólidos e/ou líquidos, identificação e antibiograma do isolado. (OPLUSTIL, 2010)

O diagnóstico da tuberculose ainda tem como base técnicas desenvolvidas há mais de um século, a baciloscopia e a cultura do escarro em meio seletivo, técnicas estas que sabidamente encerram alguns óbices que dificultam, algumas vezes, a tomada de decisão no sentido de iniciar terapia adequada. Neste contexto, não se pode ignorar que o diagnóstico de probabilidade da doença torna-se uma realidade cada vez mais presente em nosso meio. O diagnóstico de probabilidade tem como base dados clínicos, epidemiológicos e, sobretudo, dados obtidos pelos exames de imagem (CAPONE, 2006).

3.1 COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DO MATERIAL BIOLÓGICO

De acordo com OPLUSTIL (2010), o paciente deve coletar de preferência a primeira amostra matinal de escarro expectorado em frasco estéril de boca larga com tampa de rosca. Encaminhar a amostra ao laboratório em até 12 horas após a coleta em temperatura ambiente (20 a 25°C).

Segundo BRASIL (2008), o paciente deve seguir as orientações para colher o material biológico de maneira correta:

1. Lave a boca fazendo bochechos com bastante água.
2. Abra o frasco fornecido pelo laboratório;
3. Force a tosse, do seguinte modo:

- a) inspire profundamente, isto é, puxe o ar pelo nariz e fique com a boca fechada; prenda a respiração por alguns instantes e solte o ar lentamente pela boca. Faça isso mais 2 vezes;
 - b) inspire profundamente mais 1 vez, prenda a respiração por alguns instantes e solte o ar com força e rapidamente pela boca;
 - c) inspire profundamente mais 1 vez, prenda a respiração por alguns instantes e, em seguida, force a tosse para poder liberar o escarro que está dentro do pulmão;
4. Escarre diretamente dentro do frasco;
 5. Repita as orientações 3 e 4 por mais duas vezes, até conseguir uma quantidade maior de amostra;
 6. Feche o recipiente, proteja da luz solar e entregue o frasco ao laboratório.

Quando a coleta de material clínico estiver localizada em outro serviço de saúde, deve-se acondicionar os frascos contendo as amostras biológicas em caixa apropriada, verificando se os mesmos encontram-se com as tampas bem fechadas e voltadas para cima. É recomendável colocar cada um dos frascos dentro de um saco plástico, pois, em caso de extravasamento, o risco biológico fica limitado ao saco plástico e não se espalha por toda a caixa. Se o tempo de transporte for superior a 24 horas, coloque gelo reciclável (BRASIL, 2008).

3.2 EXAME MICROSCÓPICO DIRETO – BACILOSCOPIA DIRETA

A coloração para bacilos álcool-ácidos resistentes (BAAR) é utilizada basicamente para micobactérias, que são bactérias que possuem uma parede celular constituída de ácidos micólicos resistentes a descoloração por álcool-ácido. (OPLUSTIL, 2010).

Os componentes de ácido micólicos da parede cerácea também acrescentam potencial causador da doença ao micro-organismo. Eles protegem as células de *M.tuberculosis* contra enzimas potencialmente líticas e oxidantes dentro dos fagócitos que fazem a endocitose. Um dos ácidos

micólicos, chamado fator corda, que faz as células se aglomerarem em massas semelhantes a cordas, essencial para a virulência (INGRAHAM, 2010).

Através da coloração de Ziehl-neelsen pode-se visualizar um grupo restrito de bactérias que possuem sua parede celular constituída de grandes concentrações de lipídeos, em torno de 60% do peso da parede celular. A carbolfucsina se fixa firmemente aos lipídeos da parede celular e durante a lavagem com álcool-ácido não se desprendem, ficando coradas de vermelho. (RIBEIRO et al, 2011).

Ainda segundo Ribeiro et al (2011), a técnica de coloração de Ziehl-neelsen é realizada utilizando os seguintes passos:

- Cobrir o esfregaço com carbolfucsina;
- Aquecer em chamas até emitir vapores. Posteriormente marcar 5 minutos;
- Lavar a lâmina com água;
- Colocar álcool-ácido clorídrico até que não se desprenda mais corante;
- Lavar a lâmina com água;
- Corar o esfregaço com azul-de-metileno por 30 segundos.
- Lavar a lâmina com água e esperar secar antes de visualizar ao microscópio.

Para além da positividade do exame direto, o microbiologista deverá fornecer também uma noção quantitativa da carga bacilar. De acordo com a nova definição da OMS, a definição de um caso de TB, a partir de um exame direto positivo baseia-se na presença de pelo menos um bacilo álcool ácido resistente (BAAR), em pelo menos uma amostra de expectoração (BENTO et al, 2011).

De acordo com BRASIL (2008), os critérios para Leitura e Interpretação dos Resultados da Baciloscopia de Escarro:

- Não são encontrados BAAR em 100 campos = relata-se o resultado como NEGATIVO;
- São encontrados de 1 a 9 BAAR em 100 campos = relata-se apenas a quantidade de BAAR encontrada;

- São encontrados de 10 a 99 BAAR, em 100 campos = relata-se o resultado como POSITIVO (+);
- É encontrada em média de 1 a 10 BAAR por campo, nos primeiros 50 campos observados = relata-se o resultado como POSITIVO (++);
- É encontrada em média mais de 10 BAAR por campo, nos primeiros 20 campos observados = relata-se o resultado como POSITIVO (+++).

3.3 CULTURA

A cultura permite a identificação do *Mycobacterium tuberculosis* e a realização do teste de sensibilidade, além de aumentar o rendimento diagnóstico em 20-40%. Os meios sólidos mais recomendados são o Löwenstein-Jensen e o Ogawa-Kudoh. Esse último é recomendado para a utilização nos laboratórios de menor complexidade porque não requer o uso de centrífuga. A cultura em meio sólido tem como limitação o tempo do resultado (2-8 semanas). Por isso, quando possível, deve ser utilizado o meio líquido através de sistemas automatizados (resultados em 10-40 dias) (CONDE, 2009).

Um exame cultural positivo permite avaliar a sensibilidade aos fármacos antibacilares e demonstrar a eficácia do tratamento, ao determinar quando um doente deixa de ser contagioso (BENTO, 2011).

3.4 Prova Tuberculínica (PPD)

Indicada como método auxiliar no diagnóstico da tuberculose, a prova tuberculínica positivo, isoladamente, indica apenas a presença de infecção e não é suficiente para o diagnóstico da tuberculose doença. No Brasil a tuberculina usada é o PPD RT23, aplicado por via intradérmica no terço médio da face anterior do antebraço esquerdo, na dose de 0,1 ml, equivalente a 2UT (BRASIL, 2009).

A introdução do PPD no organismo determina uma reação imunocelular que nos diz apenas que este organismo já esteve antes em contato com o bacilo da tuberculose (BRANCO, 2012).

3.5 BIOLOGIA MOLECULAR

A necessidade de um teste rápido para o diagnóstico laboratorial da tuberculose (TB) levou ao desenvolvimento dos métodos moleculares para a detecção e identificação do M.tb diretamente de espécimes clínicos, ou a partir das colônias isoladas em cultivo (MELLO, 2005).

A PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) tem sido amplamente utilizada em biologia molecular, devido a sua rapidez e eficácia. Para o diagnóstico de TB em material de escarro, esta técnica possui média sensibilidade (65%) e grande especificidade (acima de 90%), e pode ser realizada em algumas horas (FREITAS, 2009).

3.6 RADIOLÓGICO

A radiografia do tórax representa, muitas vezes, a primeira abordagem diagnóstica na maioria das doenças pulmonares incluindo a tuberculose. De forma geral, as alterações radiológicas da tuberculose são a fiel tradução dos eventos patogênicos desencadeados a partir do contágio (JANSEN, 2006).

A radiografia do tórax constitui, em muitas ocasiões, a primeira abordagem diagnóstica em Pneumologia, não apenas por seu baixo custo e facilidade de realização, mas, sobretudo, pelas inúmeras informações que proporciona quando criteriosamente avaliada. Outro método de imagem que já ocupa um papel de destaque e cada vez mais se consolida como ferramenta diagnóstica indispensável é a tomografia computadorizada (CAPONE et al, 2006).

Sem dúvida, é um exame muito sensível, contudo, como é pouco específico, para fins diagnósticos, sempre será necessária a confirmação

bacteriológica. Apesar disso, existem trabalhos que propõem triagem com radiografia torácica para identificar pessoas com tuberculose ativa (CRUZ, 2008).

4 CONCLUSÃO

Este estudo visou revisar as características gerais da tuberculose pulmonar assim como seus principais métodos de diagnósticos

Como o complexo *M. tuberculosis* é altamente infeccioso torna-se de fundamental importância o rápido diagnóstico dessa infecção, tanto para o tratamento adequado do paciente como para se evitar a disseminação da doença. (OPLUSTIL, 2010)

Na ação preventiva, visa-se inicialmente a cobertura com o BCG. Na ação diagnóstica, o maior esforço será concentrado no exame direto de escarro. Na ação curativa, o objetivo será tratar os casos de tuberculose (BICA, 1974).

A busca ativa na população de pessoas com tosse prolongada deve ser uma estratégia priorizada nos serviços de saúde para a descoberta destes casos. É importante lembrar que cerca de 90% dos casos de tuberculose são da forma pulmonar e, destes, 60% são bacilíferos (BRASIL, 2011).

Nos últimos anos poucas modificações foram implementadas para o diagnóstico da tuberculose e resultados fidedignos dependem da coleta e de procedimentos de transporte adequados

Atualmente, apesar dos recursos tecnológicos para promover seu controle, sua erradicação é um objetivo que está longe de ser obtido em um futuro próximo (SOUZA, 2010).

REFERÊNCIAS

- BENTO, J. et al. Métodos Diagnósticos em Tuberculose. **Acta Medica Portuguesa**. Portugal, v. 24, n.1, 2011.
- BICA, Alfredo Norberto. et al. **Ação antituberculose em nível periférico**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1974.
- BRANCO, B.C. et al. Interpretação clínica atual do teste do PPD: Uma abordagem elucidativa. **Revista brasileira de ciências da saúde**. João Pessoa, v.16, n.2, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de programas especiais de saúde. **Controle da tuberculose: uma proposta de integração ensino-serviço**. Brasília: 4 edição, 1994.
- BRASIL. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de recomendações para o controle da tuberculose no Brasil**. Normas e Manuais Técnicos, Série A. Brasília/ DF, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Guia da Vigilância Epidemiológica**. Normas e Manuais Técnicos, Série A, 7^o edição. Brasília/ DF, 2009.
- CAPONE, D. et al. Diagnóstico por imagem da tuberculose pulmonar. **PULMÃO RJ**. Rio de Janeiro, v.15, n.3, 2006.
- CONDE, M.B. et al. III Diretrizes para Tuberculose da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. São Paulo, v.35, n.10, 2009.
- CRUZ, R.C.S. et al. Tuberculose pulmonar: associação entre extensão de lesão pulmonar residual e alteração da função pulmonar. **Revista da Associação Médica Brasileira**. São Paulo, v.54, n.5, 2008.
- FREITAS, F.A.D. et al. Métodos moleculares no diagnóstico da tuberculose e na resistência do *Mycobacterium tuberculosis* às drogas. **PULMÃO RJ**. Rio de Janeiro, v.18, n. 2, 2009.
- INGRAHAM, J.L. et al. **Introdução a microbiologia: Uma abordagem baseada em estudos de casos**. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

JANSEN, J. M. et al. Diagnóstico radiográfico e tomográfico da tuberculose pulmonar. **Revista do Hospital Universitário Pedro Ernesto**. Rio de Janeiro, v.5, n.2, 2006.

MELLO, F.C.Q. A utilidade da biologia molecular no diagnóstico da tuberculose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. São Paulo, v. 31, n.3, 2005.

Ministério da saúde. Secretaria Nacional de Programas especiais de Saúde. **Procedimentos para atividades de Controle da tuberculose**. Brasília: Centro de documentação do Ministério da Saúde, 1989.

NOGUEIRA, P.A. A infecção tuberculosa e o tempo de prisão da população carcerária dos Distritos Policiais da zona oeste da cidade de São Paulo. **Revista brasileira de Epidemiologia**. São Paulo, v.12, n.1, 2009.

OPLUSTIL, Carmen Paz. et al. **Procedimentos Básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier, 2010.

RIBEIRO, Mariangela Cagnoni. et al. **Microbiologia prática: Aplicações de aprendizagem de microbiologia básica**. São Paulo: editora Atheneu, 2011.

SÁ, L.D. et al. O cuidado à saúde da mulher com tuberculose na perspectiva do enfoque familiar. **Texto contexto - enfermagem**. Florianópolis, v.21, n.2, 2012.

SOUZA, S.S. et al. Passando pela experiência do tratamento para tuberculose. **Texto e contexto - Enfermagem**. Florianópolis, v. 19, n. 4, 2010.

VILLA, T.C.S. et al. Atraso no diagnóstico da tuberculose em sistema prisional: a experiência do doente apenado. **Texto contexto - enfermagem**. Florianópolis, v.21, n.1, 2012.